

STANISŁAW WOŁOSZYN, JACEK ANDRYCHIEWICZ, KRZYSZTOF KOSTRO,
STANISŁAW WINIARCZYK, ZBIGNIEW GRĄDZKI

Skuteczność szczepionek w zwalczaniu grzybic skórnych królików

Katedra Epizootologii i Klinika Chorób Zakaźnych Zwierząt Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR, ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin

Summary

Efficacy of vaccines in the control of dermatophytes of rabbits

The studies were carried out on two rabbit farms. The disease was caused by *Trichophyton mentagrophytes* and the infection concerned the whole flock of rabbits, bringing about death in 3–5 week-old animals in the range of 9–14%. Besides, 77–86 per cent of the farms became infected as well. A live vaccine (Tv-4) and inactivated vaccines (Tm-3 and Tm-4) were administered to rabbits twice at intervals of 14 days. In the control group only iodophors were applied locally. Both types of vaccines proved to be effective enough. In adult rabbits the lesions recessed after 3 weeks from the second dose of the vaccines. In young animals observation at day 70 showed that the percentage of diseased rabbits was 7–9 times lower than that in the control group. Vaccination of the whole flock as well as the disinfection of cages with a 5% solution of Pollena Jod-K contributed to a recession of the disease after 4 months. The positive effect of vaccination in the control group of T.m. infection was confirmed.

Grzybice skórne zwierząt futerkowych, ze względu na przewlekły przebieg oraz tendencję do stacjonarnego występowania w zapowietrzonych fermach, są bardzo uciążliwe do zwalczania. Powodować one mogą znaczne nieraz straty ekonomiczne, związane z zahamowaniem rozwoju lub nawet padnięciami przychowka, ograniczeniem obrotu zwierzętami oraz obniżeniem wartości skór. W kraju schorzenie to stanowi ciągle aktualny i ważny problem w fermach lisów (19, 20). Czynnikiem przyczynowym jest najczęściej *Trichophyton mentagrophytes* (1, 2, 5, 6, 8, 9, 19, 20), chociaż stwierdzono również zachorowania na tle zakażeń *Microsporum canis* i sporadycznie innych dermatofitów (4, 14, 15). W zwalczaniu tej choroby u lisów oprócz środków fungicydnych aplikowanych miejscowo lub doustnie w coraz szerszym zakresie stosowana jest wakcynoterapia i profilaktyka swoista przy użyciu szczepionek (8, 9, 13, 19, 20). Celem pracy była ocena skuteczności przygotowanych we własnym zakresie szczepionek w zwalczaniu grzybic skórnych królików.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono w dwóch dużych fermach królików, w których hodowano brojlery. Króliki rasy białej nowozelandzkiej i odmian barwnych trzymane były w typowych metalowych klatkach w halach wyposażonych w automatycz-

nie sterowaną wentylację i sztuczne oświetlenie. W obydwu fermach sektory rozrodu i tuczu były rozdzielone. Króliki żywione były pełnoporcjową paszą granulowaną z dodatkiem kokcydiostatyków i miały nieograniczony dostęp do wody. Warunki zoohigieniczne i sanitarne nie budziły jakichkolwiek zastrzeżeń. W obu fermach przez pierwsze dwa lata po uruchomieniu chowu brojlerów nie notowano chorób zakaźnych i uzyskiwano zadowalające wyniki produkcyjne. Króliki w wieku 70 dni osiągały masę ciała ok. 2 kg, a w wieku 4 miesięcy powyżej 3 kg. W fermie Ch grzybica pojawiła się w okresie letnim i po 6 miesiącach, mimo leczenia, utrzymywała się tak u przychowka jak i królików dorosłych. Domniemanym źródłem zakażenia były lisy, których ferma była zlokalizowana w odległości ok. 200 m, w tym samym gospodarstwie. W fermie lisów trychofitoza występowała w różnym nasileniu od dwóch lat. Do fermy R grzybica została zawleczona prawdopodobnie poprzez króliki zakupione z fermy Ch.

Do badań użyto szczepionki żywej przygotowanej z niejadliwego i cechującego się dobrymi właściwościami immunogennymi szczepu Tv-4 oraz szczepionki inaktywowanej, wyprodukowanej z dwóch uprzednio wytypowanych immunogennych szczepów Tm-3 i Tm-4. Gęstość szczepionki żywej wynosiła 10^6 cfu/ml, a szczepionki inaktywowanej była dwukrotnie wyższa. Obydwie szczepionki były kontrolowane na immunogenność na świnkach morskich. U lisów stymulowały one mechanizmy odporności typu komórkowego testowane odczynami hamowania migracji leukocytów oraz transformacji blastycznej limfocytów (10). W badaniach terenowych stwierdzono ich zadowalającą skuteczność w leczeniu i zapobieganiu trychofitozie lisów (20). W obu fermach pierwsze obserwacje rozpoczęto w okresie jesiennym i kontynuowano przez 12 miesięcy. Grupę doświadczalną stanowiły króliki szczepione, a kontrolną króliki poddane trzykrotnej co 3 dni kąpieli w 5% wodnym roztworze Pollena Jod-K. Po kąpieli widoczne ogniska grzybicze smarowano preparatem Mycoderm. W grupie doświadczalnej królikom dorosłym podawano domięśniowo dwukrotnie co 14 dni po 1,0 ml, a młodszym po 0,5 ml szczepionki. W dniu rozpoczęcia badań odsetki królików wykazujących objawy kliniczne grzybicy wahały się w grupach zwierząt dorosłych od 8,7 do 11,5, a młodych od 25,4 do 32,1% (tab. 1 i 2). Obserwacje prowadzono przez 70 dni obliczając wskaźniki zachorowalności po 14, 21, 28, 35 i 70 dniach od szczepienia czy też wykonanych zabiegów. Ponadto na 20 samicach w fermie Ch i 30 w fermie R przeprowadzono obserwacje nad wpływem szczepień zapobiegawczych na zachorowalność przychowka. Samice nie wykazujące objawów klinicznych grzybicy szczepiono dwukrotnie co 14 dni tak, aby druga dawka była podana nie później, niż tydzień przed okresem krycia. Obserwacje prowadzono również przez 70 dni notując okresowo zachorowania przychowka pochodzącego od samic szczepionych i kontrolnych. W następnym roku w fermie R przeprowadzono obserwację nad wpływem szczepień połączonych z okresowym odkażaniem. Wszystkie króliki w wieku powyżej 8 tygodni były systematycznie uodporniane szczepionką inaktywowaną, a klatki przed wstawieniem do nich królików były po mechanicznym oczyszczeniu odkażane przez kąpiel w 5% wodnym roztworze Pollena Jod-K. Jednocześnie preparatem tym spry-

skiwano półki na klatki oraz ściany i zabieg ten powtarzano co 2 miesiące.

Wyniki i omówienie

Od królików chorych z obu ferm izolowano przed rozpoczęciem badań oraz w ich toku szczepy *T. mentagrophytes*. Stanowi to potwierdzenie danych piśmiennictwa, iż jak dotychczas ten dermatofit odgrywa dominującą rolę w etiologii tej choroby u królików (1, 2, 5, 6, 8, 9). Na uwagę zasługują wyniki badań Nikiforova i wsp. (12) nad identyfikacją dermatofitów izolowanych od zwierząt futerkowych w latach 1962-1987. Do 1982 r. w grupie 614 izolatów 87% stanowiły szczepy *T. mentagrophytes*, natomiast po 1985 r. spośród 233 wyosobnionych szczepów 72% zidentyfikowano jako *M. canis*.

W objętych obserwacją fermach nasilenie objawów i przebieg choroby zależne były w dużej mierze od wieku zwierząt. U królików młodych występowała głównie postać głęboka grzybicy. Typowe ogniska grzybiczne w postaci owalnych wyłysień pokrytych szaro-białawymi lub azbestowymi strupami pojawiały się najpierw na czubku i grzbiecie nosa, wokół oczu i na małżowinach usznych (ryc. 1). Ogniska te stopniowo



Ryc. 1. Ogniska grzybiczne wokół oczu i na małżowinach usznych królika



Ryc. 2. Ogniska grzybiczne w okolicy nosowej, na łokciu i grzbiecie królika



Ryc. 3. Rozległe zmiany grzybiczne na twarzy i szyi pracownika fermy

powiększały się i rozprzestrzeniały się na skórze grzbieta, pośladków i dolnych odcinków kończyn (ryc. 2). U zwierząt nieleczonych zmiany te utrzymywały się przez 3-4 miesiące i przy uogólnieniu procesu często prowadziły do charłactwa. U najmłodszych 3-5 tygodniowych królicząt często dochodziło do wtórnych infekcji gronkowcami lub paciorkowcami, podminowania strupów ropą i padnięć na skutek posocznicy bakteryjnej. Straty spowodowane koniecznością eliminacji zwierząt charłacznych i padnięciami wahały się w granicach od 9 do 14% przychówka. U królików dorosłych dominowała postać powierzchowna grzybicy. Ogniska grzybiczne występowały w tych samych miejscach, co u młodych. Pierwszym klinicznie uchwytym objawem było zmatowienie i przerzedzenie włosów oraz nadmierne łuszczenie się naskórka. Następnie dochodziło do wyłysień na skutek wypadania lub ułamywania się włosa, a skóra w tych miejscach wyglądała jak przyprószona gipsem. U samic karmiących ogniska grzybiczne występowały na skórze brzucha w okolicy sutków. Zmiany grzybiczne u większości dorosłych królików samoistnie zanikały po 8-10 tygodniach. U niektórych samic w okresie karmienia dochodziło do powstawania ognisk strupiastych i te zmiany utrzymywały się znacznie dłużej. O większej podatności zwierząt młodych świadczą również wskaźniki zachorowalności, które są zwykle znacznie wyższe niż u dorosłych. Cutsem i wsp. (4) w dużej fermie stwierdzili objawy grzybicy u 57,5% młodych i 23,4% dorosłych królików. Podobnie Bourdji i wsp. (2) notowali prawie 50% zachorowań przychówka, podczas gdy u dorosłych były one 5-krotnie niższe. W badaniach własnych wskaźniki zachorowalności były u królików młodych mniej więcej 3-krotnie wyższe w porównaniu z dorosłymi. Poza tym zachorowalność na grzybicę jest w dużej mierze zależna od warunków sanitarnych i żywienia rzutujących na rezystencję zwierząt i rozprzestrzenianie choroby. W fermach b. ZSRR, jak podaje Kuźniecova (11), trychofitoza atakowała od 86 do 97% młodych królików.

Zbiórce wyniki stosowania szczepionek żywej i inaktywowanej przedstawiono w tab. 1 i 2. Jak wynika z zawartych w niej danych, obydwie użyte szczepionki cechowały się podobną skutecznością. W grupach doświadczalnych notowano stopniowe obniżanie się wskaźnika zachorowalności i po 35 dniach (3 tygodnie po II dawce szczepionki) choroba wygasła u królików dorosłych. W 70 dniu obserwacji u królików młodych uodpornionych odsetki zachorowalności były 7 do 9-krotnie niższe, niż w kontroli. W tym czasie w grupach kontrolnych zachorowalność utrzymywała się na tym samym mniej więcej

Tab. 1. Wyniki profilaktycznego stosowania szczepionki żywej w fermie Ch

Króliki	Grupa	Liczba królików	Wskaźniki zachorowalności w %					
			dni					
			0	14	21	28	35	70
Doroste	D	1524	9,5	10,2	6,9	3,7	0,8	0
	K	640	8,7	9,4	8,5	7,9	8,1	4,2
Młode	D	4026	30,8	32,6	25,8	18,5	10,7	1,5
	K	1321	32,1	31,8	28,2	34,5	26,8	17,1

Objaśnienia: D – grupy doświadczalne – szczepione dwukrotnie co 14 dni, króliki dorosłe – dawka 1,0 ml i.m., króliki młode od 8 tyg. życia – 0,5 ml i.m., K – grupy kontrolne – kąpiele w 5% roztworze Polleny Jod K i smarowanie widocznych ognisk grzybiczych preparatem Mycoderm 3× co 3 dni.

Tab. 2. Wyniki profilaktycznego stosowania szczepionki inaktywowanej w fermie R

Króliki	Grupa	Liczba królików	Wskaźniki zachorowalności w %					
			dni					
			0	14	21	28	35	70
Doroste	D	652	11,5	14,1	8,5	4,8	1,3	0
	K	485	9,8	8,5	12,2	8,5	9,2	5,3
Młode	D	1830	25,4	27,1	20,4	15,6	10,4	2,4
	K	754	28,1	25,8	32,5	26,4	25,1	14,8

Objaśnienia: jak w tab. 1.

poziomie do 35 dnia i dopiero później notowano jej spadek. Warto podkreślić, iż w tych grupach obserwowano wprawdzie także ustępowanie zmian u części królików, ale jednocześnie dochodziło do zachorowań zwierząt innych. Powodowało to utrzymywanie dość wysokiego wskaźnika zachorowalności, zwłaszcza u królików młodych.

Wyniki badań nad zachorowaniami prychówka pochodzącego od matek uodpornionych przed okresem krycia ilustruje tab. 3. W tym doświadczeniu jedynym pozytywnym efektem szczepień był brak zachorowań królicząt do 3 tygodnia życia. W toku dalszych obserwacji do 70 dnia życia odnośne wskaźniki zachorowań w grupach doświadczalnych były podobne jak w kontrolnych.

Przedstawione dane wskazują, iż obie szczepionki cechowały się zadowalającymi właściwościami immunogennymi przy stosowaniu u królików i prychówka w wieku powyżej 8 tygodni. Szczepienie samic przed okresem ciąży nie rzuto-

wało na zachorowalność prychówka w środowisku zakażonym. Stwierdzono jedynie brak zachorowań królicząt najmłodszych. Podkreślić należy, iż pozwalało to na znaczne obniżenie strat ogólnych, gdyż w tej grupie wiekowej dość często dochodziło do padnięć obejmujących od 9 do 14% prychówka.

Dobrą skuteczność homologicznych szczepionek w zwalczaniu grzybic skórnych królików stwierdzili Koroliewa i Iwanowa (9), Nikiforov i wsp. (13) oraz Kasatkina (8). Ta ostatnia przeprowadziła badania histopatologiczne skóry królików zakażonych w warunkach doświadczalnych zjadliwym szczepem *T. mentagrophytes*. U królików uodpornionych szczepionką „Mentovac”, grzybnię wykazano jedynie w keratynowej warstwie naskórka, a użyty szczep reizolonowo do 8 dnia po zakażeniu. U królików kontrolnych grzybnia przerastała cały naskórek powodując miejscowe odczyny zapalne w postaci nacieków, głównie granulocytów w skórze właściwej. Powstałe typowe ogniska grzybicze utrzymywały się przez 4 tygodnie i w tym czasie reizolonowano szczep użyty do zakażenia. Chimakadze (3) oraz Szili i Köhalmi (18) zalecają w zapowietrzonych grzybicą fermach doustne podawanie gryzeofulwiny w dawkach leczniczych – 20 mg i profilaktycznych – do 10 mg/kg m.c. Mimo bardzo dogodnego sposobu aplikacji antybiotyk ten nie znalazł szerszego zastosowania w dużych fermach ze względu na znaczne koszty i nawroty choroby po zaprzestaniu jego stosowania (5). Poza tym, gryzeofulwina nie może być podawana samicom, gdyż działa toksycznie i teratogenicznie na płody (17).

Wszyscy autorzy zajmujący się zwalczaniem grzybic skórnych królików w dużych fermach zwracają uwagę na konieczność dewastacji spor dermatofitów w środowisku zewnętrznym. W tym celu stosowano pochodne mikonazolu, roztwory siarczanu miedzi i formaliny (2, 4, 9, 18). W badaniach własnych zdecydowano się na preparaty jodoformowe ze względu na ich dobre właściwości fungicydne i możliwości stosowania do dezynfekcji bieżącej bez konieczności usuwania królików z pomieszczeń (20). W fermie R wykazano, że szczepienia całego pogłowia połączone z okresowym odkażaniem klatek i całej hali przyczyniły się do wygaśnięcia trychofitozy już po 4 miesiącach.

Zwalczanie grzybic skórnych królików jest uzasadnione nie tylko względami ekonomicznymi, ale również sanitarnymi. Wielu autorów opisało masowe zachorowania pracowników obsługi w zapowietrzonych fermach (1, 3, 5, 6, 7, 11). Szili i Köhalmi (18) stwierdzili występowanie trychofitozy u prawie całej załogi liczącej 22 osoby oraz dodatkowo u 16 członków ich rodzin. Podobna sytuacja miała miejsce w obydwu objętych obserwacją fermach. W fermie Ch spośród 11 pracowników trychofitozę, potwierdzoną izolacją szczepu *T. mentagrophytes*, stwierdzono u 8 (77%) zatrudnionych, a w fermie R

Tab. 3. Wyniki profilaktycznego stosowania szczepionek przeciugrzybiczych u samic króliczych na zachorowalność prychówka

Ferma Szczepionka	Grupa	Liczba samic	Liczba młodych	Wskaźnik zachorowalności prychówka w %				
				dni				
				14	21	28	35	70
CH Żywa	D	20	128	0	0	10,5	14,0	28,5
	K	20	132	0	3,6	13,3	18,3	32,0
R Inaktywowana	D	30	192	0	0	9,4	16,8	27,1
	K	30	183	0	5,8	15,2	20,2	24,8

Objaśnienia: D – grupy doświadczalne – samice szczepione przed okresem krycia 2× 1,0 ml co 14 dni, K – grupy kontrolne – samice nieszczepione.

spośród 14 zachorowało 12 (86%). Zmiany grzybicze występowały nie tylko na rękach i twarzy (ryc. 3), ale również na skórze brzucha i udach. Warto podkreślić, że w toku kilkunastoletnich badań własnych w fermach lisów zapowietrzonych trychofitozą obserwowano z reguły pojedyncze zachorowania osób z obsługi. Można domniemywać, że tak wysoka zachorowalność pracowników ferm króliczych była związana z dużą ekspozycją na zakażenie w halach produkcyjnych oraz bliskim, bezpośrednim kontaktem ze zwierzętami. W fermach lisów klatki są usytuowane na wolnym powietrzu. Źródło zakażenia dla ludzi stanowią nie tylko króliki chore, ale również bezobjawowi nosiciele spor dermatofitów. Balsari i wsp. (1) poszukując źródła zakażenia dla personelu laboratorium przeprowadził badania 215 królików i wykazał nosicielstwo *T. mentagrophytes* u 0,5% zwierząt. Króliki mogą być również źródłem zakażenia *M. canis*, przy czym zakażenie tym dermatofitem, jak podaje Nikiforov (13), bardzo często u zwierząt przebiega bezobjawowo. Przeprowadzone badania wykazały zadowalającą skuteczność szczepionek żywej i inaktywowanej w zwalczaniu grzybic skórnych królików.

Piśmiennictwo

1. Balsari A., Bianchi S., Socilovo A., Dragoni J., Poll S., Ponti W.: Lab. Anim. 15, 75, 1981.
2. Bourdji-Hatiopoulou E., Kanto B.: Bull. Hellenic vet. med. Soc. 34, 72, 1983.
3. Chimakadze S. A.: Trudy Vsesojuz. Inst. eksp. Vet. 65, 32, 1987.

4. Cutsem J. Van., Serven F. Van., Gerrts H., Rochette F.: Mykosen 28, 400, 1985.
5. Franklin C. Z., Gibson S. V., Caffrey C. J., Wagner J. E., Steffen E. K.: J. Am. vet. med. Ass. 198, 1625, 1991.
6. Hajsig M., Naglic T., Hajsig D., Horvat V., Lukman P., Covic A.: Vet. Arch. 53, 251, 1983.
7. Hironaga M., Fujigaki I., Watanabe S.: Mycopathologia 73, 101, 1981.
8. Kasatkina N. V., Gołodova O. A.: Trudy Vsesojuz. Inst. eksp. Vet. 65, 88, 1987.
9. Koroleva N. V., Ivanova L. G.: Trudy Vsesojuz. Inst. eksp. Vet. 65, 32, 1987.
10. Kostro K., Wołoszyn S.: Medycyna Wet. 52, 255, 1996.
11. Kuzneva O. W.: Bjul. Vsesojuz. Inst. eksp. Vet. 32, 29, 1978.
12. Nikiforov L. I., Chuchina T. V.: Bjul. Vsesojuz. Inst. eksp. Vet. 65, 28, 1988.
13. Nikiforov L. I., Żarkov I. I., Slugin V. S., Chuchina T. V., Noginov V. K., Bordasova O. V., Mukhamesthin V. K.: Krolikovodstvo 2, 28, 1990.
14. Ožegovic L., Krilic M., Ožegovic T., Veljo V.: Veterinaria (Sarajewo) 39, 477, 1990.
15. Saxena S. P., Rhodes H. E.: Sabouraudia 8, 235, 1970.
16. Simaljakova M., Buchvald J., Olexova B.: Mykosen 32, 93, 1989.
17. Slonickaja N. N., Michajlec G. A.: Antibiotiki 18, 655, 1973.
18. Szili M., Köhalmi J.: Mykosen 24, 412, 1981.
19. Wawrzekiewicz J., Wawrzekiewicz K., Sadzikowski Z.: Medycyna Wet. 47, 317, 1991.
20. Wołoszyn S., Andrychiewicz J., Kostro K., Grądzki Z.: Medycyna Wet. 39, 387, 1983.
21. Wołoszyn S.: Pol. Arch. Wet. 27, 4, 1987.

Adres autora: prof. dr hab. Stanisław Wołoszyn, ul. Sowińskiego 8/23, 20-040 Lublin

MARIAN TISCHNER, MAREK TISCHNER

Uzyskiwanie, dzielenie i transplantacja zarodków koni*)

Katedra Rozrodu Zwierząt Wydziału Zootechnicznego AR, Al. Mickiewicza 24/28, 30-150 Kraków

Summary

Collection, splitting and transfer of equine embryos

The aim of the studies was the collection, splitting and transfer of halves of equine embryos in order to obtain monozygote twins. Experiments were carried out on 27 mares including 19 Polish pony and 8 heavy-type mares. Out of the total number of 134 collections, 55 (41%) embryos were obtained: on days 5.5–6.5 after ovulation, 12 embryos were collected; on day 7, the number was 32; and on day 8, there were 11 embryos. Among the embryos obtained there were 8 morulas, 11 early blastocysts and 36 blastocysts. Ten embryos were split into halves, 14 of which were transferred non-surgically and 2 using surgery in the flank. None of the transferred embryo halves resulted in pregnancy. From among 16 control mares to whom whole embryos were transferred 10 were found pregnant on day 20 and 7 of them gave birth to healthy foals.

The best results were obtained when the degree of synchronization of the estrus cycle between the donor and recipient mares was minus 2, e.g. when the recipient mare ovulated two days later than the donor mare.

Urodzenia bliźniąt jednojajowych u zwierząt, podobnie jak u ludzi, spotyka się bardzo rzadko, a u koni w ogóle dotychczas nie stwierdzono takiego przypadku (4). Rodzenie się bliźniąt monozygotycznych stało się jednak możliwe dopiero po opanowaniu metod dzielenia zarodków i ich transplantacji. Metody te stosuje się rutynowo w hodowli bydła uzyskując wysoki procent urodzeń bliźniąt jednojajowych. Willadsen i wsp. (11) po podzieleniu 14 zarodków bydłowych uzyskali 10 par monozygotycznych cieląt. U koni uzyskanie bliźniąt monozygotycznych napotyka jednak na wiele trudności i pomimo licznych eksperymentów prowadzonych już od wielu lat urodziło się zaledwie kilka par źrebiąt bliźniąt monozygotycznych, 4 w Anglii (1, 7) i jedna w USA (8). Główną barierą jest mała liczba zarodków, jakie uzyskuje się od klaczy i wynikające z tego ograniczenia eksperymentowania.

*) Praca finansowana przez KBN nr projektu 5 0698 91 01